

学位授与番号	医博乙第1195号
学位授与年月日	平成4年10月21日
氏名	平野 由朗
学位論文題目	二次元電気泳動法による枯草菌孢子発芽期の蛋白質の解析について

論文審査委員	主査	教授	亀山 忠典
	副査	教授	福田 龍二
		教授	中村 信一

内容の要旨および審査の結果の要旨

枯草菌孢子の発芽と成長過程は、細胞ゲノムの遺伝子（群）の選択と遺伝子の逐次発現に関する分子機構を研究するのに適したモデルである。すなわち枯草菌孢子の発芽期では孢子の遺伝子発現プログラムが増殖期へと変化する過程であり、この転写制御に関与する遺伝子活性化調節因子の解明は興味深い課題である。しかしながら枯草菌孢子の発芽期の研究は比較的少なく、その分子機構についてはみるべき進展はない。

そこで本研究は³⁵Sメチオニンの存在下で枯草菌孢子を発芽させ新しく合成される蛋白質を二次元電気泳動法を用いて解析し、発芽過程における転写調節に関する分子の様式を解明することをこころみた。1分パルス標識実験の結果、発芽期では最初にRNAが合成され次に蛋白質合成、少し遅れてDNA合成と続く。二次元電気泳動法を用いて発芽後特定の時期に合成される蛋白分子種の解析を行った。この方法による解析の結果、発芽5分で3種類の標識蛋白分子a, b, cの合成が確認され10分までに約65種類、次の10～20分期に約210種類、増殖期には約260種類の標識蛋白分子がそれぞれ確認された。RNA合成の阻害剤であるアクチノマイシンDの蛋白合成におよぼす影響を調べた。発芽開始と同時にアクチノマイシンDを加え15分まで培養したところ、2種類の標識蛋白分子a, bの合成が確認された。これら2種の蛋白分子は発芽5分で合成が確認された蛋白分子a, b, cのうち、a, bと同じものであった。発芽初期において合成される蛋白分子a, bとリボゾーム蛋白質あるいはRNAポリメラーゼとの関連を検索したがリボゾーム蛋白質に該当するものはなかった。枯草菌のRNAポリメラーゼの二次元電気泳動の分析結果ではあきらかに蛋白分子bとRNAポリメラーゼの α のスポットが一致した。

得られた成績は以下のように要約される。

1. 枯草菌の発芽期の遺伝子は段階的に発現する。
2. アクチノマイシンD存在下にもかかわらず発現する蛋白分子がある。
3. 発芽期には比較的寿命の長いmRNAが存在する。
4. 発芽期に最初に合成される蛋白分子は2種あり、うち1つはRNAポリメラーゼの α である可能性が示唆される。

以上より本研究は枯草菌孢子発芽期の転写調節機構の一端の解明に寄与した有益な労作と評価された。